植物病原線蟲之生物防治

蔡東纂

國立中興大學植物病理學系

全世界的農業專家長久以來爲了提昇作物品質及產量而努力不懈，然植物根系發展不良所造成的減產，始終是爲達成增進作物生長效應(increase- growth response, IGR)目標的最大障礙。根據一項由 75 個國家，1330 位線蟲學者參與之調查統計顯示，危害植物根群，嚴重影響養分吸收的植物寄生性線蟲，每年可造成全球主要作物 12.3%之損失，約值一千億美金。由於植物寄生性線蟲病害之發生是漸進式的，對多年生、單相栽培、專業區及高頻率栽植之作物，益形容易演變爲可使產量降低 30 至 100%之連作障害。西尾氏有條理地分析日本 521 個作物忌地(soil sickness)，發現其中由植物線蟲引起者佔 15.9%。目前對作物線蟲病害的防治多依賴殺線蟲劑之施用，美國一年即須花費一億七仟二百萬美元。但是許多殺線蟲劑是致癌物質，可殘存於農產品中或汙染土壤及地下水。有鑒於此，美國環境保護署(U. S. Environmental Protect Agency)已積極檢討並禁止或限制使用殺線蟲劑。如 1, 3- D 及得滅克(aldicarb)已被限制施用對象；加保扶(carbofuran)粒劑、二溴乙烷(EDB)及滴滴滅(vorlex)業遭禁用；即使全世界應用最多土壤及栽培介質燻蒸消毒的溴化甲烷(methyl bromide)亦將於公元二千年禁產禁用。因此，如何利用非化學防治方法提高土地生產力，維持動植物生態平衡和資源再利用，已成爲現今大力倡導的永續農業(sustainable agriculture)努力的目標。在此前提下，利用現成基本資源，以生物防治的方式取代化學藥劑或降低其使用量，是植物保護之趨勢。早在 1974 年，Baker 與 Cook 兩人即對植物病害生

物防治下一定義:「應用一種或更多的非人類病原生物來減少植物病原的數量或降低其致病活力。」其所強調的致病活力(disease- producing activity)包括植物病原的生長、侵染能力、病原性、病徵進展及繁殖等。而非人類病原生物則泛指動、植物及微生物等生物防治資源。就植物病原線蟲之生物防治而言，舉凡可直接捕捉線蟲，或令其致病或死亡，達到降低線蟲密度及其危害程度作用之生物，則統稱爲拮抗生物(antagonistic organisms)，其中包括病毒、細菌、立克次體(rickettsia)、渦蟲(turbellarian)、線蟲、原生動物(protozoa)、水熊(tardigrade)、 (mite)、跳蟲(collembola)、enchytraid、真菌及昆蟲等。Korry 氏統計 500 篇植物病原線蟲拮抗生物研究報告，其中 76%爲真菌，獵食性線蟲佔 7%，細菌佔 5%，其餘生物僅佔少數。諸如上述之線蟲拮抗生物，都具有作爲植物病原線蟲生物防治因子(biological control agents)之潛力。更廣義地說，若植物本體或其分泌物具有殺線蟲物質(nematicidal principles)，並足以影響線蟲的方向性(orientation)、行動、入侵、攝食及繁殖能力者；或土壤添加物經植物吸收後其根分泌物對線蟲有致毒或排斥性者，皆可作爲線蟲生物防治資材。

植物線蟲病害之生物防治於 1920 年即有報導，Cobb 氏將一些捕食性線蟲(predacious nematodes)加進甜菜田土中，用以防治甜菜包囊線蟲(*Heterodera schachtii* schmidt)；但 1927 年 Thorne 氏評估此項措施並無經濟效益。1938 年，Linford 等人發現添加腐熟的有機物於土壤中，有助於誘發線蟲天敵並增進其活動力，尤其是線蟲捕捉性真菌種類，從而降低夏威夷鳳梨田中根瘤線蟲之族群數量。1940 至 1960 年間，由於施用簡易且效果明顯的殺線蟲劑廣爲農業界所倚重，以致線蟲生物防治之研究爲之式微。1970 年代中期，有感於殺線蟲劑對環境生態之破壞及殘毒之虞，植物線蟲生物防治之研究於焉爲世界先進國家所重視。

植物病原線蟲生物防治與植物病原真菌、細菌等生物防治之作為差異甚大。一般而言，成功且實際可行的線蟲病害生物防治研發過程需歷經四個步驟：一、尋求對線蟲具高度病原性，且為根圈棲生性之線蟲拮抗(微)生物。二、初步試驗：於研究室內就該拮抗(微)生物進行形態、生理、生態及拮抗機制之瞭解。之後，於溫室中，針對該拮抗(微)生物對常見的耕地土壤特性(如質地、酸鹼度)之反應、棲生及殘存能力。並探討對不同寄生方式線蟲種類族群發展之抑制效果。三、配合目前農友常用且易取得之農工廢料或副產品，研發出提供拮抗(微)生物於土壤中建立族群有利條件之有機添加物配方，俾能兼顧肥料效果及農民施肥習慣，實際應用。四、田間試驗：依據研發而來之配方，以發酵技術，製成特定單位菌量之製劑，於罹患線蟲病害田間，進行施用效果評估。

尋找良好之線蟲拮抗生物

找尋到一種對防治對象具有高度拮抗能力，又兼具廣效性之拮抗性生物是生物防治研究者最大的心願。在長期田間調查分離過程中，以含養份之培養基的誘釣平板法，可自土壤中分離到大量的線蟲拮抗微生物，尤其以生長迅速，作用力表現明顯的線蟲捕捉性真菌為最大宗，細菌次之，放射線菌最少。本省農友施用有機肥料時，多年生果樹以表施及穴施，一、二年生蔬果花卉則以拌土築畦為主，其深度多在 30 公分以內。以離心法及自植物根部取出之行動遲緩、病變或死亡線蟲體中分離到之細菌仍以 *Pasteuria penetrans* 為多，其他少數細菌對線蟲也有明顯之病原性，寄生對象以根瘤線蟲之雌蟲及二齡幼蟲居多。放射線菌於土壤中族群豐富，在所分離之 351 個菌株中，以 *Streptomyces* 屬最多，*Streptosporangium*、*Micromonospora*、*Kitasatoa* 及 *Micropolyspora* 屬次之。17 年前發現存在於柑桔根部之放射線菌，具寄生及破壞柑桔線蟲(*Tylenchulus semipenetrans*

Cobb.)卵之能力，後經證實其作用係 *Streptomyces* spp.分泌之 chitinase，分解線蟲卵殼中之幾丁質層所導致，因此本研究所篩選之放射線菌乃以具分解幾丁質能力者為主。於所蒐集之菌株中以來自新竹縣柑桔園地面蟬蛻之 *Streptomyces saraceticus* 之 4 個菌株最具分解幾丁質能力，自蝦蟹加工廠廢料堆積場獲得者次之。*Mononchus* sp.廣泛地存在於本省農地，於有機質含量高之土壤中常可發現高密度之族群。 類以大型捕植 [(*Amblyseius herbicolus* (Chant)]最常存在於土壤顆粒大，團力結構良好之土壤表層(0-5 公分)或草莓植株上，以取食線蟲卵為生，於本研究三種線蟲誘釣法中，僅於誘釣包置於作物根基部時才被發現。

至目前為止，全球各地可捕捉線蟲之壺菌、卵菌、結合菌、不完全菌、子囊菌及擔子菌等真菌約有 200 種，彼等真菌可寄生於線蟲的卵、幼蟲、成蟲、或胞囊上。

土壤中的靜菌因子(fungistatic factors)可抑制真菌孢子發芽。在加有養分的誘釣平板上發芽的孢子，有許多在土壤中是呈休眠狀態的。培養皿中綿密網狀的菌絲體，線蟲勢難不碰觸而避免其捕捉。相反的，在土壤中線蟲捕捉性真菌之分佈、生長及捕捉線蟲能力，必不如培養皿中之表現。換言之，其捕捉線蟲效用是藉助人為條件，而並不符實際情況，所以在實驗室中花了鉅大的時間與勞力後，吾人仍必須重回盆砵土壤中之篩選工作。有鑑於此，本研究乃模擬自然環境設計出半密閉式的誘釣包，和全開放式的誘釣膠帶法。誘釣包之線蟲拮抗微生物分離率最高，且誘釣對象比另兩者多出獵食性線蟲及 類。而誘釣膠帶可發現較多放射線菌菌株。於培養皿上比較所分離的真菌及放射線菌等 4 種線蟲拮抗微生物的拮抗能力時，發現以誘釣膠帶法所分離者最高。此一結果充分顯示能於誘釣膠帶上發現的微生物本身已通過土壤中微生物競爭作用而表現其拮抗微生物角色，他日若施放於土壤中，其存活之機會必然較大。而且在膠帶上也能發揮線

蟲拮抗微生物之能力，足以說明其在自然界中應甚具有生物防治之潛力。數據顯示，本研究室所研發之誘釣膠帶法較沿用已久之誘釣平板法具有節省人力、時間及具有較高分離到有效之線蟲拮抗微生物機率之效用。

爲了瞭解所分離的線蟲拮抗微生物在土壤中生存能力、族群發展及作用方式，盆砵試驗是決定其能否作爲生物防治因子的通關測試。本研究室針對線蟲拮抗微生物與寄主作物近 3000 種之世界性植物病原線蟲－南方根瘤線蟲之族群關係，以感受性甚高之空心菜根部卵塊及土壤中二齡幼蟲數目爲評估指標，加以探討。盆砵內之土壤介質係採用本省農地最普遍之砂壤土，取其客觀、實際兼顧日後之實用性，有別於通常試驗用之砂或泥炭土，試驗結果顯示 *Pasteuria penetrans* 及 *Streptomyces saraceticus* 兩者對南方根瘤線蟲族群發展確實具有抑制作用。無論是在此線蟲已建立族群之土壤中或剛接種 *M. incognita* 之盆砵內，就此線蟲入侵根部所產生的卵塊數或卵孵化游移於土壤中之二齡幼蟲數量方面，皆明顯降低(表四及表五)。由此可知，此兩種線蟲拮抗微生物在南方根瘤線蟲對植物之危害兼具治療及預防效果。將來或可應用於廣大之多年生果樹及短期作物之南方根瘤線蟲病害防治上。反觀三種線蟲捕捉性真菌效果不彰，有可能是由於在土壤中未添加其所須之養分所致。*Mononchus* sp.之捕食性線蟲能力，於培養皿中觀察每天約 0-4 隻，雖有線蟲拮抗性之表現，但只能解釋爲食物鏈之角色，而無生物防治之潛力。

Pasteuria penetrans 雖能有效防止根瘤線蟲入侵寄主植物根部，但人工培養困難，加上對寄主線蟲種類專一性強，甚至對相同線蟲之寄生仍有地域性障礙存在，因而在線蟲生物防治上尙難發揮其功能。

其實，以危害植物根部病原線蟲之生物防治而言，大前提是該線蟲拮抗微生物嗜好存活於根圈環境。不論是將該拮抗微生物引進或使其增殖於根圈附近，無疑的都是對病原線

蟲的入侵植物根部形成無數的籬障。而根圈土壤中以細菌及放射線菌數量最大，以 R/S 值(根圈土壤菌數/非根圈土壤菌數)而論，在許多植物根系上兩種微生物差異不大。自根圈分離的放射線菌常在 10^4-10^7 之間，族群龐大，絕大多數爲 Streptomycetaceae 科，其中又以 *Streptomyces* 屬最普遍。本研究室於調查中多次發現 *Streptomyces* spp.族群座落於植物根部表面，尤其是在罹患植物病原線蟲之田園，顯係爲一良好之線蟲生物防治資材。

Streptomyces saraceticus 於土壤中族群之建立

有關植物線蟲生物防治之報告甚多，然迄今能通過田間測定，進而商品化的僅 4 項案例。菲律賓 Asiatic Technologies 公司以椰子殼爲基質調製出線蟲卵寄生菌－*Paecilomyces lilacinus* 之產品，於 60 個以上國家試用，效果好壞不一。法國也曾生產 *Arthrobotrys irregularis*(Royal 350) 及 *A. robusta*(Royal 300)兩種線蟲捕捉性真菌生物製劑，防治對象分別爲根瘤線蟲及洋菇線蟲(*Ditylenchus myceliophagus*)，但實用性不佳，仍有待進一步研究。美國 Uniroyal 公司推出線蟲內寄生真菌－*Drechmeria coniospora* 產品，惜不久即失去感染主要防治對象－根瘤線蟲之致病力；檢討其功虧一潰之原因，乃在於其爲了避免拮抗微生物在土壤中作用太慢，施用大量菌體(inundation)於土壤或介質中。卻疏忽了所加入拮抗微生物面臨的環境，如土壤性狀、酸鹼度、生存深度、養分需求及防治對象等客觀因素。本研究所採用之 *Streptomyces saraceticus* 曾委由食品工業發展研究所再鑑定無誤。其生理特性測試結果顯示於 36℃，酸鹼值 8.5 時生長最佳，嗜喜乳糖(lactose)爲碳素源，氮素源則以尿素(urea)、天冬醯銨酸(asparagine)及麩銨酸(glutamic acid)較適其生長。對此菌有基本生理認知後，如何結合土壤條件及利用便宜及容易取得之

農工業廢棄物或附產品作爲其營養源，俾能更廣泛爲農民所接受，即成爲本研究重點。

評估拮抗生物在土壤中對植物寄生性線蟲族群密度的影響是生物防治研究工作重要的一環，相關測試方法甚多，標準各異。然多數研究仍以寄生根部及游移於土壤中之線蟲族群數量爲判斷依據，各按其寄生方式而別，如內寄生固著性之根瘤線蟲通常以植物根部上之根瘤指數爲主，土壤中二齡幼蟲數爲輔；包囊線蟲之族群消長則以土壤中包囊、卵及二齡幼蟲數目爲準；半內寄生性之柑桔線蟲則以定量之根部上寄生之雌蟲及土壤中二齡幼蟲數計量。內寄生潛移性之根腐線蟲通常以定量根部內及土壤中之族群來衡量；而外寄生性之釘線蟲則僅以根圈土壤中之蟲口數來評定；也有不論線蟲之寄生方式，一概以定量土壤中線蟲數量爲評估生物防治效果之基準。

活動力足以感染植物根部之寄生性線蟲，不若土壤微生物可以於培養基平板上形成之菌落，計算其個體數。但是吾人若能使植物根系如同培養基平板之於細菌一般，讓線蟲的侵染能顯而易見的出現可資辨識的病徵，則將有助於研究之進行。然其關鍵在於找出對該線蟲具高感受性且於被感染後一個世代內根部即有明顯徵狀之植物。南方根腐線蟲在廣東檸檬根系上可造成清晰之壞疽斑，於入侵根部 30 天時，病斑仍呈單獨未融合狀，因而可作爲判定根部族群密度之標準。就根瘤線蟲而言，除了上述兩項要件外，植物尚須具有(1)根瘤在根系上粒粒分明地呈現，(2)卵塊易整體取得，(3)寄主植物無主根，營養根多，及(4)可於原接種處永續生長等四項條件。長久以來，根瘤線蟲的相關性研究多以蕃茄爲供試植物，包括根瘤線蟲的保存、繁殖、防治、及生態等探討；然蕃茄苗株於接種根瘤線蟲後常致衰弱而死亡，因此常須更新；且其根瘤並不單獨形成，而是有許多根瘤融合成大根瘤，包含於其中之卵塊中之卵亦不易完整取得。爲選擇一合適之供試

植物，根據前述條件，以歸餘法(method of residues)去除不合條件之對象；如供試線蟲之寄主植物可能有木本植物(喬木、灌木、蔓藤類)及草本植物(直立型、匐蔓型)等多種，而其中只有蔓藤類植物具有每節長根、生長速度快、根系多之特性；且草本植物又往往較木本植物無季節性生長差異，可供全年穩定性地培育線蟲。因此，吾人之考量焦點可集中在全年生匐蔓型草本植物。此類植物有茄科、瓜類、豆科、胡椒科、落葵科及旋花科等；經接種根瘤線蟲結果，僅旋花科植物如甘藷及空心菜之根系上根瘤成單一發展型式，根瘤不連結，且卵塊完全包裹於根部外膠囊中，便於取得及計數。旋花科植物可以盤繞方式生長於植砵中，每節長根，可永續栽培。由於甘藷有形成塊根之特性，不適於盆栽或試管中培養，空心菜則無此等顧慮。空心菜可生長於土壤中或水生環境，根系多，呈直線生長，長度可達一公尺以上，有充裕之根系來源作爲線蟲之棲息孳生場所。其盆栽生長除不斷長出新芽外，更可將其莖部如盤索方式圈於盆砵中，使其莖節處長芽生根。由於空心菜根部皮層豐厚，有利於根瘤線蟲寄生；更令人滿意的是，其根瘤明顯而不融合，每隻線蟲所產卵塊各自分開，易於辨認及計量，且卵塊表露於根部外，以解剖刀可完整取下觀察其產卵次數及數目。因此，本研究室乃多以空心菜爲供試植物。

S. saraceticus 在壤質砂土、砂質壤土及紅壤等三種台灣分佈廣泛之農地土壤中，族群發展有嗜鹼性之趨向。*S. saraceticus* 於接種 10^7cfu/ ml 高菌量情形下，可有效減少南方根瘤線蟲之卵塊形成率，因而可降低其感染率；土壤中二齡幼蟲數也顯著降低。先前的研究，經掃描式電子顯微鏡及生理測定已證實 *S. saraceticus* 對線蟲卵殼具有強大破壞力，可抑制卵之孵化，從而降低線蟲族群密度。若土壤中添加 0.2% (w/w)蝦蟹殼粉作爲營養源，除了提昇其菌數外，更可發揮防治南方根瘤線蟲之功能，大幅增加空心菜之產量。自實驗數

據得知，*S. saraceticus* 在壤質砂土及砂質壤土中，對南方根瘤線蟲族群抑制與空心菜增產效果較紅壤中爲佳。僅添加0.2% (w/w)蝦蟹殼粉處理亦表現對 *M. incognita* 族群發展之負面影響。Spiegel 等人曾以富含幾丁質之蝦蟹殼粉作爲土壤添加物，有效地防治 *Heterodera avenae* 及 *Tylenchulus semipenetrans*，此等防治效果乃由於土壤中分解幾丁質之微生物增加之故。Mittal 等人以 *Paecilomyces lilacinus* 寄生根瘤線蟲卵塊作爲生物防治資材之報告中亦指出添加幾丁質可降低每公克蕃茄根系之根瘤數。前述試驗係以滅菌後之土壤爲栽培介質，因此幾丁質降低南方根瘤線蟲感染力之作用也可能表示幾丁質本身具有抑制線蟲活性之能力。這也是美國 Igene 生物科技公司將「chitin-urea」作爲植物寄生性線蟲防治劑之原因，但其作用機制至今仍然不明。

S. saraceticus 在壤質砂土、砂質壤土及紅壤中之分佈，以 5-15 公分深度土層有較高菌量，15-25 公分深度者次之。若添加 0.2%蝦蟹殼粉於土壤中，60 天後，*S. saraceticus* 在三種土壤中的 5-25 公分土層之菌量至少仍可維持在每公克土壤 5.5×10^3cfu 以上。淺根性之蔬菜瓜果及花卉之根群應可涵蓋在保護範圍內，較深根性之果樹，如蘋果也有 67.5%之根系分佈於表土 30 公分以內，遑論枇杷、楊桃、桃、番石榴、柑桔、葡萄及木瓜等根系，將有更高比率在 *S. saraceticus* 族群活動區域中。是故，本研究室所採用之 *S. saraceticus* 若能存在於適宜生態環境及養份供給情況下對多數園藝作物之根部線蟲病害防治，必可大有作爲。

基於蔓藤類植物普遍有很長的根系，如空心菜根系即常超過一公尺；因此，以塑膠管的設計作爲測量 *S. saraceticus* 在土壤中不同深度之族群數量即對根瘤線蟲之影響是頗爲合理的。Chao 等及 Sivan 等人曾分別以鋁管及塑膠管測量微生物在根圈之菌數；蔡東纂等人亦以較大直徑之波浪式塑膠管進行土壤燻蒸之實驗。其優點爲可準確的採取特定深度之樣

品，也可以開窗戶方式，切取塑膠管片段做內部觀察，事後將塑膠片段歸回原位，並以膠帶貼妥即可，頗具實用性。

爲了配合農友施肥類型、降低農業資材成本，以本省常見之 14 種農工廢棄物或附產品作爲土壤添加物，篩選其中能增加 *S. saraceticus* 菌量，並實際能降低植物病原線蟲族群密度者，作爲土壤添加物之原料。本試驗發現蝦蟹殼粉、篦麻粕、黃豆粉、及糖蜜有助於 *S. saraceticus* 之增殖，又可降低供試四種線蟲之族群密度。但是對南方根腐線蟲蟲口數有負面影響的只有海草粉及蝦蟹殼粉的功效較明顯。

由 *S. saraceticus* 及有機添加物處理對 *Meloidogyne incognita*、*Tylenchulus semipenetrans*、*Pratylenchus coffeae* 及 *Paratylenchus curvitatus* 的存活影響測試中，可知接種 *S. saraceticus* 之處理僅對南方根腐線蟲無防治作用，尙須添加蝦蟹殼粉或海草粉方可收效。而單獨處理 *S. saraceticus* 對內寄生固著性、半內寄生及外寄生性之三種供試線蟲種類族群就可明顯地表現抑制功效。因此，未來若使用得宜，其適用對象應可包含多種植物病原性線蟲。

Castillo 以爲天然有機質土壤添加物可防治植物病原性線蟲及降低線蟲密度之原因有下列 5 點：(1)有機質添加物分解後之產物對線蟲有直接致毒性，(2)增加天敵數量，(3)改變線蟲與寄主之關係，(4)產生氨氣，(5)產生熱度。本研究室所測試之 14 種供試有機質材經發酵 30 天後其過濾液，對 *M. incognita* 二齡幼蟲有致死性的有篦麻粕、雞糞、及蝦蟹殼粉；有暫時麻痺作用的有鋸木屑、粗糠及豬糞，可降低卵塊及個別卵粒孵化率達顯著程度的僅篦麻粕一種。此發現與前人之相關研究結果吻合，如 Riegel 等人認爲雞糞之所以對線蟲有毒殺作用，乃由於氨氣之產生，與微生物並無明顯關連性。1959 年 Lear 即發現以篦麻粕作爲土壤添加物可防治 *Meloidogyne javanica* 及 *Heterodera schachtii*，後來 Rich 等人證實其所含之篦麻蛋白(ricin)對線蟲具有劇毒性。而蝦蟹殼

粉之添加除可促進土壤中幾丁質分解性微生物密度外，同時也產生對線蟲有毒害作用之氨氣。由試驗結果得知海草粉之添加在提高 *S. saraceticus* 菌量及對線蟲致毒性程度方面皆與多數供試有機質材相近，而抑制線蟲蟲口密度之功能僅次於蝦蟹殼粉；本研究證實其原因之一乃是添加海草粉植後 20 天之空心菜、柑桔及茶之幼苗根系分別對四種供試線蟲之誘引率大幅降低之故，其他因素則有待進一步探究。雖然海草中常被發現有溴酚(bromophenols)、單寧(tannins)、間苯三酚(phloroglucinol)及類　(terpenoids)等物質，最近的研究也指出紅藻(*Digenea simplex*)內含有細胞致毒劑－紅藻氨酸(kainic acid)，但其在土壤中對植物寄生性線蟲之作用，則尚未明確地瞭解。

基於添加有機物可以改良土壤性狀，又可配合 *S. saraceticus* 之應用而可收線蟲生物防治之效；符合農友栽培管理習慣又可免施用劇毒性殺線蟲劑後顧之虞，應能為農民所接受。本研究室篩選出來對防治植物病原線蟲有效之蝦蟹殼粉、篦麻粕、黃豆粉、海草粉及糖蜜等，在土壤中的添加量若超過 2% (w/w)可導致根系傷害。調製之混合比例更應注意碳氮比；C/N 低將因銨態氮之大量產生，影響微生物之增殖，且易致植物肥傷，太高則防治線蟲功能下降，最好之 C/N 範圍在 14-20 之間。以有機質肥料標準添加量之 0.5% (w/w)計量，盆栽試驗收效良好之 0.2% (w/w)蝦蟹殼粉及 0.2% (w/w)篦麻粕，加上較低量之 0.05% (w/w)海草粉，以 0.025% (w/w)之黃豆粉和糖蜜調合 C/N 相對量，於是組合成以 40%(w/w)蝦蟹殼粉、40%篦麻粕、5%黃豆粉、10%海草粉及 5%糖蜜調和之混合物，以其作為往後相關試驗之測試材料；本組合物經測定其 C/N 為 18.2±0.2。*S. saraceticus* 以培養基於 24℃，一星期後測得平均菌量達 6.7×10^{7}，作為有機添加物量產之 *S. saraceticus* 接種源。

本配方之混合物暫稱之為 LT(Lively Tiller)，俾易於記事。

本試驗使用之 LT 有機添加物配方

Components of the LT organic amendments used in this study.

Component		Percentage (w/w)
Shrimp/crab shell powder	蝦蟹殼粉	40
Castor pomace	篦麻粕	40
Marine algae powder	海草粉	10
Soybean meal	黃豆粉	5
Molasses	糖蜜	5

LT 有機混合物在植物寄生性線蟲病害防治上之應用

一連串的試驗之後，本研究室研發之含有約 10^7cfu 之 *Streptomyces saraceticus* LT 混合物(LT mixture，以下稱 LT-M)，將於溫室及田間試驗中，評估其對植物病原線蟲生物防治之效果與對植物生長之影響。

施用 LT-M 與殺線蟲劑防治金香葡萄根瘤線蟲病之效果

金香葡萄根瘤線蟲病之防治，由田間試驗結果得知，LT-M 之施用量，每公頃為 2000 公斤者在夏、冬兩果期之根瘤指數及罹病指數均較 1000 公斤用量為低。與 3%加保扶粒劑處理相較之下雖稍有差異，但比對照組之根瘤指數及罹病指數，在夏、冬二果期分別降低 47.5、67.8 和 42.8、69.5%。

施用每公頃 2000 公斤量之 LT-M 處理，在本試驗中對金香葡萄結果枝長度、果穗重及甜度上均獲得最佳效果。尤其在冬果期，果穗重及甜度較施用 3%加保扶粒劑處理者平均高

出 49 公克及 2.1 度。產量方面，每公頃施用 2000 公斤 LT-M 處理者，在夏、冬兩果期較對照者之平均果穗重，分別高出 57 及 76 公克；品質上，甜度分別高出 3.0 及 5.0 度。

每公頃金香葡萄園分別施用 500、1000、2000 公斤量之 LT-M 與 60 公斤 3%加保扶粒劑，第一年土壤中之根瘤線蟲二齡幼蟲密度以施用加保扶處理者最低。處理 LT-M 每公頃 2000 公斤及 1000 公斤者，於第二年時，根瘤線蟲之二齡幼蟲數目即低於施用加保扶粒劑者，且較第一年施用之效果理想。

LT-M 對柑桔線蟲、南方根腐線蟲族群發展之影響

對柑桔線蟲及南方根腐線蟲之防治，於盆砵試驗中以 10%芬滅松粒劑效果顯著地(P=0.05)最好。施用 LT-M 亦可分別降低柑桔苗根系上之柑桔線蟲及土壤中之二齡幼蟲數分別達 93.8 及 94.1%，同時亦促進苗株生長達 58.3%。處理 LT-M 對南方根腐線蟲之防治效果較柑桔線蟲差，依序分別只減低感染率及土壤中線蟲數 50.0 及 63.3%，與增產 25.3%。

自全年柑桔園根圈土壤調查結果得知，施用 LT-M 與 10%得滅克、10%普伏松及 10%芬滅松粒劑對柑桔線蟲族群之影響頗為相近。與對照組相較，其主要作用係將柑桔線蟲抑制在全年之最低密度狀態，而達到防治柑桔線蟲之目的。

10%芬滅松粒劑在田間防治柑桔園根腐線蟲的效果，較 10%得滅克及 10%普伏松粒劑為佳。處理 LT-M 對降低根腐線蟲二齡幼蟲的效用，僅稍優於 10%普伏松粒劑。本試驗所有處理可將根腐線蟲族群密度抑制至對照之 1/3 左右。

施用 LT-M 對非洲菊根瘤線蟲族群之影響

田間防治非洲菊根瘤線蟲病害之成效以 LT-M 處理者優於 3%加保扶粒劑，與對照組相較，可降低土壤中根瘤線蟲二齡幼蟲數及根瘤數，分別達 80.4 及 82.5%。

LT-M 對南方根瘤線蟲族群發展之影響

將 LT-M 及 3%加保扶粒劑以土壤混拌方式施用，於盆砵中 LT-M 可降低土壤中南方根瘤線蟲之二齡幼蟲數及根系上之根瘤數，依序分別達 65.7 及 79.9%，優於處理 3%加保扶粒劑的 58.5 及 78.0%。兩處理對苦瓜苗株之生長皆有顯著地(P=0.05)促進作用。

於植前將每公頃 2000 公斤施用量之 LT-M 及 60 公斤之 3%加保扶粒劑混拌入田土，其防治苦瓜根瘤線蟲病之效果，顯示 LT-M 處理者雖與處理加保扶者無顯著地(P=0.05)差異，但仍略優於處理 3%加保扶粒劑者。

結論

植物病原線蟲生物防治發展迄今，多著眼於微生物對線蟲體、卵之寄生或捕捉性真菌之拮抗作用；繼之，由於線蟲絕對寄生菌 *Pasteuria pentrans* 對線蟲高度感染力被發現後，又興起一股研究熱潮，然其寄主專一性及培養不易兩大難題，仍是實用上尚待克服之障礙。而性喜生存於根圈，且曾被偵測到有些種類可分泌高於化學殺線蟲劑 10 至 30 倍毒性物質-avermectins 之 *Streptomyces* spp.則於近十年內始被注意。1984 年筆者自柑桔園根圈、根　、根粉介殼蟲及蟬蛻上分離到不少對幾丁質有強力分解能力之 *Streptomyces* spp.，並於 1992 年經台大吳文希教授引介與美國麻州大學 Bert M. Zuckerman 教授充分交換研究心得後，益覺得 *Streptomyces*

spp.在線蟲生物防治上潛力雄厚。之後，Zuckerman 氏並與 Dicklow 等人發現所分離之 *Streptomyces* spp.可分泌某些抗線蟲，分子量高達 6000 之蛋白質，可有效抑制 *Meloidogyne incognita*、*Rotylenchus reniformis* 在蕃茄及甜椒上之族群發展，且可降低 *Pratylenchus penetrans* 對草莓之危害。而 *Caenorhabditis elegans* 之產卵數也因其寄生而降至 55%。經測定本研究之 *Streptomyces saraceticus* 在液體培養第三天時，產生 endochitinase，而且 endochitinase 之產生量可達最高，分子量則高為 34564(未發表)。因此，在接種 *S. saraceticus* 四天時即可發現線蟲卵遭受破壞之情形

通常線蟲生物防治之天敵來源，多依靠誘釣平板法 (Drechsler's soil sprinkle technique)、柏門氏漏斗法 (Baermann funnel technique)、區分式離心法 (Differential centrifugation technique)及直接分離自線蟲體等分離方式。上述方法以分離捕捉或寄生線蟲卵、蟲體之真菌與細菌為主要目的。本研究所研發之誘釣包可將蒐集之天敵生物範圍伸展至昆蟲及獵食性線蟲，而塑膠帶誘釣法可快速、有效地分離出具競爭能力之拮抗微生物，在生物防治工作上可縮減不少人力及時間，更可直接利用此法偵測其作用情況。

利用天敵微生物作為線蟲生物防治因子之應用，主要關鍵在於如何在根圈土壤中使該天敵微生物大量增殖。因而添加有機物質直接或間接提昇線蟲生物防治效果，也是研究之焦點。農工廢棄物及附產品中，大抵分為動物類：骨粉、血粉、蝦蟹殼等；及植物類：粕類、豆粉、海草粉、糠、種殼、木屑、菇糞、糖蜜等。一般而言，如含有酚化物(phenols)及單寧(tanins)成份之植物質材，對線蟲皆有毒殺作用。如苦楝種子中之 limonoids，已知為殺蟲劑 azadirachtin 之主成份，可降低南方根瘤線蟲卵孵化率及毒殺二齡幼蟲。篦麻子成份中之 ricin 也是高毒性蛋白質，對南方根瘤線蟲有致毒性。此外動物糞便、蝦蟹殼粉、粕類及鋸木屑等皆可於發酵過程中

產生氨及亞硝酸鹽類物質，對植物病原線蟲亦有殺傷力。本研究將可分泌 chitinase 之幾丁質分解性放射線菌(*S. saraceticus*)配合具有毒殺線蟲、降低根部對線蟲誘引率之篦麻粕、海草粉，加上促進 *S. saraceticus* 增殖之蝦蟹殼粉，以黃豆粉與糖蜜調整其碳氮比至 18，以發揮防治線蟲之功能。此外，黃豆粉及糖蜜之類的碳素源能有效防止由於氨氣造成植物根系之毒害，且對植物生長有所助益。研究線蟲生物防治學者，往往太自信於天敵生物之能力，或以較昂貴之氨、碳素源成品爲液體培養基，而忽略了在實用上農業資材的配合需適合農友施肥習性及常用肥料種類。本研究爲了降低農友成本，更希望有肥料及生物防治兩種功能兼顧的情況下，方自本省最易取得的農工廢棄物及附產品中去篩選，其來有自。

LT-M 對植物根部寄生性線蟲之防治，很顯然的，其效果以外寄生性者(如釘線蟲)最佳，依序爲半內寄生(如柑桔線蟲)、內寄生固著性(根瘤線蟲)及內寄生潛移性者(如根腐線蟲)。究其原因，可能在與 LT-M 作用之機率，如釘線蟲產卵於根系外，易爲 LT-M 中之 *S. saraceticus* 分泌的幾丁酵素作用，而根腐線蟲之卵多存在於根部內，因而不易被破壞之故。於柑桔寄生性線蟲防治試驗中，也不難發覺 LT-M 對抑制柑桔線蟲之效果優於防治根腐線蟲之效果。

以土壤混拌法施用 LT-M 對根瘤線蟲之防治，在非洲菊及苦瓜試驗中，清楚可知較 3%加保扶粒劑爲佳，其原因主要是 LT-M 在混拌土壤之 7 天中，已可使 *S. saraceticus* 大量增殖，其累積之幾丁酵素也足可破壞土壤中之線蟲卵粒。此外，LT-M 中對線蟲之有效防治成份亦能逐漸釋出，而進行其抑制線蟲功能。

自連續兩年於葡萄園中施用 LT-M 之根瘤線蟲族群消長看來，其對降低根瘤線蟲族群密度效果有累積漸進之作用。

第二年施用 LT-M 有助於使前一年土壤中 *S. saraceticus* 獲得再度增殖的機會，達到防治根瘤線蟲之效果。

柑桔植株罹患線蟲病害而導致衰弱，施用殺線蟲劑後，往往須 2 至 3 年的時間方能漸漸使之恢復健康；但施用 LT-M 於柑桔慢性衰弱病株後四個月內，即可看到樹勢明顯旺盛情形。此乃因爲 LT-M 之效用一則可降低線蟲之危害，二則可提供給根系充裕養分以促進生長，植株於獲得養分補給後，旋即恢復生機。此即中國傳統之「療補」道理。是故 LT-M 施用於葡萄、非洲菊及苦瓜栽植上，均具促進植株生育功效，並可提高葡萄甜度，此等作用結果和對照組相較均頗爲明顯。

Dicklow 等人發現其所分離之 *Streptomyces* spp.除了對 *Meloidogyne incognita*、*Rotylenchus reniformis* 及 *Pratylenchus penetrans* 有防治效果外，也表現出對 *Rhizoctonia solani* 之抑菌能力(antifungal activity)。本研究所供試之 *Streptomyces saraceticus* 菌株，經證實後也對 *Fusarium oxysporium*、*Collectotrichum* spp.、*Botrytis cinerea*、*Pythium aphani-dermatum*、*Alternaria brassicicola* 及 *Rhizoctonia solani* 等有抑制生長之情事(未發表)。其未來發展之潛力仍不可限量。